Aus dem Institut für Entwicklungsmechanik und Vererbung.
(Direktor: Professor Dr. Bernhard Dürken.)

Über das Verhalten des nicht am Herkunftsort zur Entwicklung gelangenden Regenerationsblastems.
(Mit Berücksichtigung des Geschwulstproblems)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
in der Medizin bei der Hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Breslau.

Vorgelegt von
Karl-Adolf Schubert
Unterarzt im Heer.

Breslau 1940

Druck: Druckerei Tittler, Breslau 1, Schmiedebrücke 46/47

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Breslau.

Referent: Prof. Dürken.

Dekan: Prof. Gottron.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Über das Verhalten des nicht am Herkunftsort zur Entwicklung gelangenden Regenerationsblastems. (Mit Berücksichtigung des Geschwulstproblems.)

Einleitung.

Bei den folgenden Erörterungen und Versuchen hatte ich mir zuerst einmal ganz allgemein die Frage gestellt: Was geschieht mit Zellen, die aus ihrem Verbande gelöst, sich an einem anderen als ihrem Herkunftsort entwickeln müssen? Ich dachte dabei von vornherein daran, daß man mit solchen Zellgruppen, die also der Regulation durch den Gesamtorganismus entzogen sind, dem Geschwulstproblem näher kommen müßte. Unter Regulation verstehe ich dabei die Fähigkeit des Ganzen, bei Ausfällen oder Veränderungen die normalen morphologischen und histologischen Verhältnisse entsprechend dem Bauplan des Organismus wiederherzustellen. Infolgedessen schieden ausdifferenzierte Zellen als ungeeignet aus, da nicht zu erwarten war, daß sie — was das weitere Wachstum als auch eine eventuelle histologische Abweichung betrifft — Besonderheiten zeigen würden.

Auch Embryonalzellen kamen nicht in Frage, da die Möglichkeit einer Interplantation dieser Zellen nur bei der Larve oder dem erwachsenen Tier gegeben ist. Dies aber hätte bedeutet, daß ich Bedingungen geschaffen hätte, die dem Geschwulstproblem nicht entsprochen hätten. Hingegen mußten die Zellen des frühen Regenerationsblastems als geeignet erscheinen, da sie in vermehrter Teilung begriffen und histologisch noch nicht festgelegt sind. Diese letztgenannten Eigenschaften sind natürlich hinsichtlich des Geschwulstproblems wichtig.

Das frühe Regenerationsblastem mußte also an ortsfremder Stelle interplantiert werden, um ortsgemäße Regulation auszuschalten. Angenommen wurde dabei, daß, was frühere Arbeiten ergeben haben sollen, das Regenerationsblastem, rechtzeitig abgetragen, noch undeterminiert ist. Undeterminiert heißt, daß diesen Zellen ihr Schicksal, was ihre weitere Histogenese und, im Verbande gesehen, auch ihre Morphogenese

betrifft, noch nicht aufgeprägt ist. Sie sind also gewissermaßen ein Material, dessen Verwendung noch nicht festgelegt ist. Undeterminierte Zellen können also niemals differenziert sein. Differenziert heißt hier, daß die histologisch einer Zellgruppe wie z. B. Bindegewebe, Muskel oder Epithel zugeordnet werden können, also eine bestimmte Ausprägung erhalten haben. Undifferenzierte Zellen aber können bereits determiniert sein. Es ist Letzteres demnach keine Eigenschaft, die wahrgenommen werden kann. Bei den folgenden Interplantationen geht es nun nicht um die Feststellung der Potenz, d. h. um den Umfang der erhalten gebliebenen Entwicklungsmöglichkeit, sondern um das Verhalten aus ihrem Zusammenhang gerissener undeterminierter und damit auch undifferenzierter Zellen und um eventuelle Aufklärung der Ursachen, wenn es dabei zu Atypien der Morphogenese oder gar der Histogenese kommt. Dabei hätte eine abweichende oder fehlende Morphogenese freilich nur bewiesen, daß das Material im geeigneten Zeitpunkt entnommen wurde und undeterminiert war.

Ich fasse also nochmals kurz zusammen: Es sollte sich bei den Versuchen erweisen, ob das Blastem undeterminiert zugrunde geht, ob die Zellen sich dem Wirtsgewebe anpassen und von ihm aufgenommen werden oder ob der Zellverband weiter wächst, in welcher Weise er sich histologisch differenziert und welche Abwehrreaktionen der Wirt aufweist. Auf künstliche Eingriffe wie Röntgenstrahlen usw. wurde absichtlich verzichtet, um dem Geschwulstproblem parallele Bedingungen zu schaffen.

Befasse ich mich so mit dem Regenerationsblastem, wäre es vielleicht auch wesentlich, die Probleme der Regeneration, welche für die im Besonderen zur Rede stehende Frage von Bedeutung sind, im Abriß zu schildern. Jedoch ist dies im vorliegenden Rahmen nicht möglich, obgleich sie zum vollen Verständnis und zur Bewertung meiner Hinweise und Versuche notwendig sind. Ich muß sie also als bekannt voraussetzen und auf das umfassende Werk von K o r s c h e l t: „Regeneration und Transplantation" verweisen.

Einige besonders wichtige Bemerkungen aus dem Gebiet der Regeneration schicke ich trotzdem voraus. So ist erstlich einmal der Begriff des Blastems zu erläutern. Das R e g e n e r a t i o n s b l a s t e m ist eine Anhäufung, mindestens aber eine Gruppe von undifferenzierten Zellen, die z. B. bei einer amputierten Extremität von Salamander als Kegel der Wundfläche aufsitzt und sich im Anschluß an eine Absetzung dieser Extremität entwickelt. In Fällen, wie sie für das folgende in Frage kommen, handelt es sich dabei nach der Auffassung

vieler Autoren um eine Rückdifferenzierung von Zellen aus den an die Wundfläche angrenzenden Geweben bis zu indifferenter Beschaffenheit und anschließend um Neudifferenzierung mit strukturell und funktionell völlig neuen Bildungen. (Rößle 1923); mit anderen Worten eigentlich um Metaplasie. Das Blastem ist als Ausgangszellkomplex für die Regeneration die Regel. Das Regenerat entsteht dann als Ganzes aus dem gleichförmigen Blastem. Die dabei vom Ganzen ausgehende Regulation zieht also relativ undifferenzierte oder auch differenzierte Zellen (diese unter Metaplasie) in das Regenerationsgeschehen ein.

Aus der Literatur erwähne ich hauptsächlich nur die Arbeiten, die sich unter annähernd ähnlichen Fragestellungen mit dem Regenerationsblastem beschäftigen. So haben Brunst und Scheremetjewa (1936 und 1937) mit Hilfe von Röntgenstrahlen nachgewiesen, daß das Regenerationsblastem aus Zellen des Regenerationsortes und nicht durch Zuwanderung gebildet wird. Diese Feststellung ergänzt des weiteren unsere Betrachtungen über das Regenerationsblastem als solches.

Rozas (1936) fand bei seiner Arbeit, daß diese undifferenzierten Zellen des Blastems — er untersuchte dies bei Kaulquappenextremitäten — im normalen Organismus sonst nirgends aufzufinden seien. Er glaubte, feststellen zu können, daß diese Regenerationszellen aus Zellen verschiedenster Gattung hervorgehen.

Wenn im Laufe der Arbeit noch öfters von den mesodermalen oder mesenchymalen Zellen des Blastems gesprochen wird, so ist damit gemeint, daß diese Zellen, sofern sie einzuordnen sind, dem Bindegewebe am nächsten stehen. Es handelt sich also dann meistens um Blasteme, bei denen die Außenseite durch Schichtung zum Epithel tendiert, während im Innern des Kegels die Zellen in lockerer Anordnung durcheinanderliegen und diese dann als die mesenchymalen Teile angesprochen werden.

Die Arbeiten von Liosner und Woronzowa (1936), welche die Muskeln des Stumpfes von größter Bedeutung für die Art und Größe der Differenzierungsleistung des Regenerationsblastems halten, will ich nur streifen, weil sie dem Begriff des Regenerationsblastems für sich betrachtet keinen neuen Inhalt geben.

Wesentlich erscheinen jedoch noch die Arbeiten, die die Rolle des Epithels untersuchen.

Poleżajew hat in drei Arbeiten (1933, 1935, 1936) festgestellt, daß zwar eine Regeneration durch Epithelverschluß der Wunde verhindert wird und erst bei erneuter Quetschung

und Verletzung eine Regeneration auftritt, und also die Differenzierungsleistung des Regenerats eine Funktion der Stärke der bei der Wundheilung auftretenden Resorptionsprozesse ist, daß aber andererseits das Epithel des Regenerationskegels, von dem wir schon oben sprachen, die Ansammlung der mesodermalen Zellen und das Wachstum und die Ausdifferenzierung bewirkt. Im Alter von 10 Tagen des Epithels beraubte Regenerationskegel entwickeln sich atypisch. Gleich beraubte entwickeln sich unter Andauer der histologischen Differenzierung gar nicht.

Da auch ich in einigen Versuchen nur mesenchymales Gewebe verpflanzt habe, weise ich auf diese Versuche hin, obwohl sie, unter dem für das folgende bedeutsamen Gesichtswinkel der Transplantation betrachtet, hier nicht ohne weiteres verwendet werden können.

Hinsichtlich der Abgrenzung des Blastems gegenüber dem sich bereits differenzierenden Regenerat hat auch Schaxel wichtige Begriffe geprägt und das noch undeterminierte Blastem, die Knospe und die eine bereits beginnende Differenzierung aufweisende Anlage unterschieden. Das Fortschreiten der Neubildung im Regenerat erfolgt dabei verschieden, teils in proximaler, teils in distaler Richtung.

Nach diesen kurzen Vorbemerkungen über das Regenerationsblastem wenden wir uns den Versuchen zu, die sich unserem Thema entsprechend mit dem nicht am Orte der Herkunft zur Entwicklung gelangenden Blastem beschäftigen. Grundsätzlich haben hier die Arbeiten ergeben, daß, sofern eine Differenzierung stattfindet, diese herkunftsgemäß erfolgt, d. h. so, als ob das Regenerat am Ort der Herkunft verblieben wäre. Hidemiti Oka (1935), der regenerierende Extremitäten in die Wirtsbauchhöhle verpflanzte, stellte fest, daß 1. Nerven für die normale Morphogenese entbehrlich sind, 2. zur Entwicklung der Knospe eine Stütze notwendig ist und 3., daß das Transplantat eine induktive Tätigkeit entfaltet. Wesentlich erscheint hierbei für spätere Betrachtungen, daß die Nerven zur Morphogenese nicht notwendig sind. Balinski (1935), der mesodermale Anteile von Extremitätenanlagen in der Augenhöhle aufzog, stellte fest, daß zur vollständigen Differenzierung die Wechselwirkung von Mesenchym und Epithel gehört. Das Mesenchym allein ist nur andeutungsweise dazu fähig. Bei Berührung mit dem Kopfepithel des Wirts übernimmt unter Umständen dieses die genannte Aufgabe.

Orechowitsch (1934) beobachtete in seinen Versuchen, daß die das Blastem bedeckende Haut verdünnt und durch-

stoßen wird. Er schreibt so dem Regenerationsblastem eine histolysierende Eigenschaft zu. Inwieweit meine Versuche diese Behauptungen bestätigen konnten, wird uns zum Schluß noch beschäftigen. Die meines Erachtens interessanteste Frage nach dem Verhalten des besonders jungen Regenerationsblastems haben nur wenige Arbeiten zum Gegenstand, so daß darüber bisher wenig Literatur vorliegt, in der man noch ziemlich viele Widersprüche findet. Vom jungen oder frühen Blastem kann man dann sprechen, wenn noch keine Entscheidung über das Entwicklungsschicksal seiner Bezirke eingetreten ist, mit anderen Worten, wenn es noch undeterminiert ist.

Poležajew (1934) behauptet, daß das Blastem auch in den Anfangsstadien nicht „nullipotent", wie er es nennt, sei, sondern auch in diesen Stadien die Fähigkeit zur herkunftsgemäßen Entwicklung hat. (Unter nullipotent hätten wir nach unserer bereits besprochenen Nomenklatur undeterminiert zu verstehen.) Die Verwirklichung der Potenz sei nur von der Menge der Blastemzellen abhängig, da sonst Resorption eintrete.

Falls meine Versuche diese Ansicht bestätigt hätten, wäre das Blastem nicht das geeignete Material für die im folgenden versuchten Hinweise auf das Geschwulstproblem.

Sawtschuk (1937) hingegen behauptet sogar, daß über die orts- bezw. herkunftsgemäße Entwicklung nicht der Differenzierungs- oder Determinationsgrad des Blastems entscheidet, sondern das Maß der Beteiligung der Wirts- oder Transplantationszellen am Blastem. Damit will er sagen, daß beispielsweise bei der Verpflanzung eines Extremitätenblastems an einem Schwanzstumpf die prozentuale Beteiligung des Extremitätenblastems also der Transplantationszellen am Wirtsgewebe des Schwanzes bezw. des sich bildenden Schwanzblastems darüber entscheidet, ob das Blastem sich morphogenetisch zur Extremität oder zum Schwanz hin entwickelt. Zu dieser Ansicht kann man sich freilich nur schwer bekehren.

Meinen Versuchen am nächsten kommen sowohl im Ergebnis wie in der Anlage die Arbeiten von Schaxel (1934). Er verpflanzte in der einen Versuchsreihe Extremitäten-Regenerationsknospen, in der anderen ebensolche Regenerationsanlagen (vgl. oben) auf verschiedene Körperstellen außerhalb der Extremitätenregion. Während sich die Anlagen histologisch und morphologisch differenzierten, entwickeln sich aus den Knospen formal unbestimmte, meist knollige oder lappige Gebilde, die histologisch kein ausdifferenziertes Gewebe aufwiesen. Hier liegt also ein Fall vor, wo durch Verpflanzung

des noch nicht determinierten Blastems — eben der Regenerationsknospe — der regenerative Prozeß verhindert wird unter Fortdauer eines histologisch unklaren Zellwachstums. Damit gewinnen wir auch den Übergang zu Betrachtungen über das Geschwulstproblem.

Dürken (1928) wies bereits darauf hin, daß die Frage der Verhinderungsmöglichkeit regenerativer Prozesse zweifellos auch für das Problem der bösartigen Geschwülste von Wichtigkeit werden dürfte.

In derartigem Zusammenhang hat schon früher Dürken (1925) und später auch Woerdemann (1935) die Ansicht vertreten, daß das Geschwulstwachstum die Folge von Störungen der normalen Wechselwirkung von Zellgruppen sein könnte. Unter diesen Umständen könnten die induzierenden Einflüsse fehlen, die die Differenzierung und Vermehrungsbeschränkung einleiten.

Auch Champy (1935) stellt den Satz auf, daß lokale Regenerationsanomalien nach Störung des Regulationsgleichgewichts die Ursache von Krebsentstehung sein könnten.

Als allgemein gültigen Ausgangspunkt für die weitere Betrachtung stellen wir zunächst mit Korschelt fest, daß die Fähigkeit, verlorene Teile ganz oder teilweise zu ersetzen in der Tat eine dem Organismus von vornherein zukommende Eigenschaft ist. Dies ist insofern von Wichtigkeit als die bei einer Verhinderung der Regeneration erzielten Ergebnisse somit auch für die Organismen allgemeingültige Schlüsse zulassen würden. Die Regeneration stellt ähnlich wie die Embryonalentwicklung ein von Grund auf Neuschaffen dar. Hinsichtlich des Geschwulstproblems ist aber festzustellen, daß im erwachsenen Organismus keine embryonalen Zellen vorhanden sind, so daß nur die entdifferenzierten Zellen des Regenerationsgeschehens einen Ausgangspunkt für unsere Fragestellung nach den Beziehungen zu den Neubildungen bieten. Höhere Organisation und höheres Alter vermindern die Regenerationsfähigkeit, also die Möglichkeit, zwar nicht neues Zellmaterial zu bilden aber dieses zu determinieren und zu differenzieren. Auch dabei drängt sich einem der Zusammenhang von verminderter Regenerationsfähigkeit mit verstärkter Häufigkeit des Geschwulstwachstums auf. Wenn wir in diesem Zusammenhange noch feststellen, daß regenerative Prozesse und Wachstumsvorgänge im Sinne der Zellerneuerung ineinander übergehen, so wird die Möglichkeit des in Beziehungsetzens von Regeneration und Geschwulstwachstum noch deutlicher, weil mit der letzten Feststellung die Notwendigkeit einer Wunde für spätere Schlüsse entfallen kann.

Wenn auch diese Gedankengänge Spekulationen sind, so sind sie doch meines Ermessens nach nicht unfruchtbar, weil sie die Versuche mit dem Regenerationsblastem in einem aussichtsreichen Licht erscheinen lassen. Wesentlich dürfte dabei sein, daß zur Klärung des Geschwulstwachstums auf neue Versuchsmöglichkeiten hingewiesen wird, zumal die Beschäftigung mit der Krebszelle uns dem Wesen der Geschwulst an sich nicht näher gebracht hat.

Material und Technik.

Als Spender für die Blasteme wurden Larven von Salamandra maculosa und in einer Versuchsserie Triton cristatus verwandt. Als Wirt wurden ebenfalls Salamandra-Larven und in einem Fall solche von Amblystoma mexicanum benutzt. Es handelte sich nun darum, durch Absetzen einer Extremität oder des Schwanzes ein Blastem zu erzeugen und dieses möglichst frühzeitig abzutragen und an eine vom Herkunftsort entfernte Körperregion mit günstigen Lebensbedingungen zu interplantieren. Für das in Frage kommende Alter der Blasteme bei Salamandra findet sich ein gewisser Anhalt in einer Arbeit von Metteta l (1935) dahin, daß bei einer Temperatur von 22—23 Grad in den ersten 12 Tagen bei Salamandra maculosa in der Regenerationsknospe außer der Epidermis nur mesenchymales Gewebe und einige Myoblasten gefunden wurden.

Als Ort für die Interplantation des losgelösten Blastems wurde die Augenhöhle gewählt.

Die Methode selbst stammt von D ü r k e n (1925).

Die Tiere werden mit Fließpapierstreifen auf einer mit Wachs ausgegossenen und mit Wasser gefüllten Petrischale festgehalten. Unter dem Binokular wird oberhalb des Auges mit einer zugeschliffenen gestielten chirurgischen Nadel ein Einstich gemacht, und die Nadel unter die Haut geführt. Durch Gegendrücken einer stumpfen Nadel wird die Haut durchtrennt. Mit derselben stumpfen Nadel drängt man nun von der Cornea her das Auge durch den Einschnitt heraus. Das Auge löst sich meistens als Ganzes. So ist ein Brutraum geschaffen, der vorn von der durchsichtigen Cornea, hinten vom Bindegewebe der Augenhöhle begrenzt ist. Durch den Einschnitt wird dann mittels einer fein ausgezogenen Pipette das Blastem eingebracht. Den Spendertieren wurde dicht am Rumpf eine Hinterextremität bezw. anderen ein ca. 1 cm langes Stück des Schwanzes abgetragen. Die sich im Anschluß entwickelnden Blasteme wurden abgeschnitten und bei anderen nicht amputierten Tieren in der oben beschriebenen Weise in Chloroform-

wassernarkose interplantiert. Manchmal wurden die Tiere zur Wiederbelebung in Kampherwasser gebracht. Für 3 Tage wurden die Tiere dann in tonfiltriertem Wasser gehalten. Die Wundheilung geschah außerordentlich gut. Die Herausnahme des Auges war bei Salamandralarven sehr viel leichter als bei Amblystoma. Auch als Wirt eignet sich Salamandra sicher am besten. Die versuchte Vitalfärbung der Blasteme mit Nilblausulfat gebe ich im einzelnen nicht an (5—40 Minuten), da das damit erstrebte Ziel, das Blastem bis zur späteren mikroskopischen Untersuchung kenntlich zu machen, nicht erreicht wurde. Trotz der vorgeschriebenen Fixierung und Überführung in Paraffin über Dioxan, Methylbenzoatzelloidin und Benzol blieb die Färbung nicht erhalten. Zum Teil wandelte sie sich bald in rot um. (Nilblausulfat in konzentrierter wässriger Lösung färbt Neutralfette rot.) Die Fixierung erfolgte in Zenker bezw. in für Vitalfärbung modifiziertem Zenker. (Anreicherung mit Sublimat unter Fortlassung des Eisessigs.) Die Objekte wurden dann in Serienschnitte zerlegt und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Versuche.*)

Die Versuche kann man im Großen in 2 Gruppen einteilen, und zwar in die mit Interplantation von Extremitätenblastemen und in die mit Interplantation von Schwanzblastemen. Ich beginne mit ersteren und lasse zuerst einmal die histologische Beschreibung eines solchen Blastems folgen. Dieses entstammt der Serie 4 und ist als Vergleichsblastem sofort nach der Abnahme fixiert worden, während die anderen interplantiert wurden.

Das Präparat 4 R zeigt im Querschnitt von außen nach innen beschrieben 2—3 reihige, geschichtete, eng aneinanderliegende Zellen, die von einer Membran nach Innen nur stellenweise abgegrenzt sind. (Epithel.) Zwischen diesen Zellen und nach Innen zu findet sich Pigment. Den Innenraum füllt eine gleichförmige, rund- bis ovalkernige, locker zusammenliegende Zellgruppe aus.

Bei der Interplantation der Extremitätenblasteme liegen insgesamt 6 Serien mit veränderten Bedingungen vor. Eine bei allen Serien verschiedene Bedingung ist das Alter des Blastems, das 2 mal 10 Tage, und je 1 mal 11, 13, 15 und 17 Tage

*) Infolge beschleunigter Ablegung der Staatsprüfung und insbesondere wegen Einberufung zum Heeresdienst konnte nur ein Teil der geplanten Versuche durchgeführt werden.

alt war. Weiterhin wurden die Bedingungen insofern abgeändert, als zum Teil heteroplastisch verfahren, z. T. das Mesenchym aus der Regenerationsknospe herausgeschält und nur dieses verwandt wurde, oder zum Unterschied davon das Gesamtblastem unzerstückelt interplantiert wurde. Unter heteroplastisch verstehe ich, daß das Blastem nicht einem Tier gleicher Art interplantiert wurde, daß also Spender und Wirt verschiedenen Tierarten angehören. Unter homoplastisch verstehe ich demgemäß, daß Wirt und Spender derselben Art angehören, während ich endlich unter autoplastisch zu verstehen habe, daß Wirt und Spender identisch sind.

Bei der Besprechung der Ergebnisse lasse ich nun die Serien dem Alter des Regenerats entsprechend folgen:

Serie 11: In 3 Axolotllarven (Augenhöhle) von ca. 3 cm Länge wird das herausgeschälte Mesenchym von je einem Extremitätenblastem von Salamandralarven interplantiert. Das Blastem ist 10 Tage alt.

Nach 7 Tagen Abtötung des ersten Tieres 11 a:

Das Interplantat besteht aus histologisch undifferenzierten (vergl. oben) Zellgruppen. Die Basalmembran der Wirtsepidermis ist verbreitert mit eingelagernten Zellen.

Nach 9 Tagen Abtötung von 11 b:

Die Epidermis des Wirtes erscheint verändert im Sinne einer Zellanhäufung und zapfenförmiger Einstülpungen nach innen und einer hyalin-streifigen Auflockerung der Basalmembran. Das Interplantat erscheint gesund. Es ist histologisch nicht differenziert und weist Pigmenteinlagerungen auf. Starke Leukozytenanhäufung spricht für die Abwehrreaktion des Wirts.

Nach 30 Tagen Abtötung von 11 c:

Die Basalmembram der Wirtsepidermis zeigt an der Berührungsstelle mit dem Interplantat eine ca. das Fünffache ausmachende faserig-hyaline Auflagerung mit eingelagerten Zellen. Vom Interplantat sind nur noch Reste in Form einer kleinen, histologisch nicht eindeutigen Zellgruppe mit Hohlräumen und Pigment vorhanden. Der Abbauprozeß erscheint fast abgeschlossen. Die Zellkerne weisen streifenförmige und körnchenförmige Strukturen auf (Nekrose?)

Serie 10: In 7 Salamandralarven (Augenhöhle) wird homoplastisch das herausgeschälte Mesenchym von Extremitätenblastemen, die 10 Tage alt sind, interplantiert. Ein Tier (10 a) wird sofort fixiert, um die Lage des Interplantates und den Schnitt sofort nach der Operation festzuhalten. Ein Spendertier wird zur Kontrolle des Differenzierungsgrades des Regenerats ebenfalls sofort fixiert. (10 R).

10 R: Von 2—3 schichtigen Epithel, welches Pigmenteinlagerungen aufweist, begrenzte, locker nebeneinander liegende Zellen; diese sind vielgestaltig, von Blutkörperchen durchsetzt und erinnern in ihrem Aufbau am meisten an Bindegewebszellen.

Nach 7 Tagen Abtötung von 10 b:

Vom Interplantat ist nur eine kleine, histologisch nicht klare Zellgruppe vorhanden.

Nach 14 Tagen Abtötung von 10 c:

Das Interplantat ist in kleinen Zellgruppen mit Hohlräumen und Pigment vorhanden. Die Zellkerne haben z. T. streifen- und körnchenförmige Struktur. Eine geballte Zellgruppe befindet sich in Muskelnähe. Histologisch sind die Zellen nicht deutbar. Abwehrreaktionen des Wirtes sind vorhanden. (Leukozyten).

Nach 21 Tagen Abtötung von 10 e:

Unklare Absetzung der Wirtsepidermis. Basalmembran von Zellen bis zur Unkenntlichkeit durchsetzt. Durcheinander der Gewebe. Kein klarer Mesenchymknoten. Kleine nekrotische Zellgruppen. Starker Gefäßreichtum. Unterlagernder Knorpel des Wirts an einer Stelle aufgefasert, davor Bindegewebsklumpen. Bindegewebe vermehrt. Eine Entscheidung, ob dieses Bindegewebe vom Wirt oder vom Interplantat stammt, ist nicht möglich. Epidermis eingezogen. Leukozytenanhäufung.

Nach 28 Tagen Abtötung von 10 f:

Kleine Zellknoten mit Hohlräumen und homogenen Bezirken. Die Zellkerne erscheinen verwaschen und unscharf. Histologisch unklar.

Nach 35 Tagen Abtötung von 10 g:

Knorpelknoten im Nervenplexus. Mehrere Zellknoten mit zum Teil verwaschenen und unscharfen Zellkernen. Histologisch unklar.

Serie 1: In 2 Salamandralarven wird homoplastisch je ein 11 Tage altes Gesamtblastem von Hinterextremitäten interplantiert. Nach 3 Tagen werden beide Tiere abgetötet.

1 a: Epithelblase. Zwischen dieser und der Wirtsepidermis aufgelockerter Mesenchymzellhaufen, der sich von dem umgebenden Gewebe schlecht abgrenzen läßt.

1 b: Epithelblase. Zusammenhang von Wirt und Interplantat. (Vermengung?) Keine Vermehrung des Mesenchyms in der Umgebung.

Serie 6: In 4 Salamandralarven wird das 13 Tage alte Gesamtblastem (je 2 Hinterextremitäten und Vorderextremitäten) von Triton cristatus interplantiert.

Nach 21 Tagen Abtötung von 6 a:

Kleine Zysten und Zellgruppen von z. T. epitheloidem Aussehen. Im Innern der Zysten Zelltrümmer und homogene Massen. Drusenförmige Gebilde ähnlich einem Stecknadelbündel, das mit den Spitzen zusammensteckt. (Pilze?) Basalmembran des Wirts aufgelockert. Sehr starke Leukozytenanhäufung.

Nach 26 Tagen Abtötung von 6 b:

Vom Interplantat viel erhalten. Epithelspindel an der Wirtsepidermis mit eigener Basalmembran. Das Epithel sieht gesund aus, nicht von Leukozyten durchsetzt. Z. T. histologisch nicht eindeutiges Epithel mit schlitzförmigen Hohlräumen. Mesenchym stark vermehrt, von Leukozyten durchsetzt. Gefäße vermehrt. Auflockerung der Basalmembran der Wirtsepidermis.

Nach 36 Tagen Abtötung von 6 c:

Vom Interplantat nur noch Reste vorhanden, die mit Pigment und Leukozyten durchsetzt sind. Die Zellen haben verwaschenes Aussehen. Histologisch unklar.

Nach 42 Tagen Abtötung von 6 d:

Vorknorpel und Bindegewebszüge als Interplantatsgewebe erkannt.

Serie 2: In 5 Salamandralarven wird homoplastisch das 15 Tage alte Gesamtblastem von Hinterextremitäten interplantiert.

Ein Vergleichsblastem wird fixiert. (R 2).

R 2: Mehrreihige, meist dreireihige Epidermis, die nach innen längliche, nach außen runde Zellen aufweist. Einige Zellen zeigen homogene, große Vakuolen (Eiweißzellen). Die von der Epidermis begrenzte Gewebsmasse weist polymorphkernige (meist rundliche) Zellen auf, die ungeordnet zusammenliegen.

Nach 10 Tagen Abtötung von 2 a:

Epithel vom Wirt, nur Mesenchymzellen vom Interplantat. Viel Gefäße. Basalmembran undeutlich mit eingelagerten Zellen.

Nach 33 Tagen Abtötung von 2 b:

Von wahrscheinlich stehengebliebenen Tapetumzellen ist eine fast vollständige Regeneration des Auges erfolgt. Vom Interplantat ist nichts festzustellen.

Nach 44 Tagen Abtötung von 2 c:

Eine kleine histologisch unklare Zellenanhäufung an der Wirtsepidermis wird als Interplantatsrest erkannt. Ebenfalls als solcher ein kleiner runder Zellverband von schalenförmig

aneinandergelegten Zellen mit Hohlraum. Leukozytenanhäufung. (2 c 1—2).

Nach 55 Tagen Abtötung von 2 d:

Das Interplantat hat sich histologisch differenziert. Die Differenzierung ist unzweideutig gehemmt. Es findet sich Vorknorpel und Mesenchymballung. Morphologisch unklar bleibt ein zystischdrüsiges Gebilde. Viel Gefäße.

Nach 58 Tagen Abtötung von 2 e:

Das Interplantat hat sich histologisch und morphologisch (?) vollständig differenziert. Einzig größere und kleinere drüsigzystische Gebilde von epitheloiden Zellen und ein daneben-liegender rundkerniger Zellhaufen bleiben auch histologisch unklar.

Serie 4: In 7 Salamandralarven wird homoplastisch das 17 Tage alte Gesamtblastem von Hinterextremitäten interplantiert.

Nach 32 Tagen Abtötung von 4 a:

Das Interplantat ist quantitativ vermindert. Es besteht aus einer histologisch unklaren dichteren Zellgruppe. Die Basalmembran des Wirts ist an dieser Stelle von der Zellgruppe durchsetzt und faserig aufgelöst.

Nach 36 Tagen Abtötung von 4 b und 4 c:

4 b: Vorgewölbter Zapfen mit ziemlich weitgehender Knorpelbildung; außerdem Mesenchymzusammenballung und Vorknorpel. Knorpelachse angelegt. Die Basalmembran liegt abgelöst hinter dem Interplantat. Das Epithel hat das Aussehen eines Regenerationskegelepithels. Eine epitheliale Zyste gewinnt mit der Epidermis Verbindung. Histologisch ziemlich vollständig differenziert. Morphologisch fraglich.

4 c: Es findet sich ein epithelialer, stabförmiger Zapfen, der Wirtsepidermis anliegend und von deren Basalmembran eingeschlossen. Der Zapfen ist vielleicht nur als Reizwucherung der Wirtsepidermis anzusehen; er ist nicht sicher als Interplantat ansprechbar.

Nach 51 Tagen Abtötung von 4 d und 4 e:

Bei 4 d sehen wir eine zapfenartige, mit der Wirtsepidermis zusammenhängende, nur auf einigen Schnitten von ihr durch Basalmembran getrennte Zellgruppe. Sie selbst ist ebenfalls mit einer Basalmembran umgeben. Histologisch erinnert sie am meisten noch an Vorknorpel.

Bei 4 e zeigt sich uns eine Zellgruppe von epithelialvorknorpeligem Aussehen an der Wirtsepidermis, von deren Basalmembran eingeschlossen. Es hat das Aussehen einer Schlußetappe des unter 4 d beschriebenen Bildes.

Nach 53 Tagen Abtötung von 4 f:

Die Differenzierung ist histologisch sehr weit fortgeschritten (Knorpel, Muskel, Bindegewebe). Morphologisch bleibt sie völlig unklar. Die Wirtsepidermis ist gewuchert und drüsenförmig eingestülpt. Ihre Grenze ist z. T. unklar mit aufgelockerten untergelagerten Zellgruppen.

Nach 57 Tagen Abtötung von 4 g:

Die Knorpelachse ist angelegt. Das Epithel stammt wahrscheinlich vom Wirt. Die Achse ist groß und ungegliedert. Gelenke sind nicht ausgebildet. Sie stellt das Zerrbild eines Extremitätenskeletts dar. Die histologische Gliederung ist in diesem Falle völlig normal.

Schwanzblasteme:

Bei beiden Versuchsserien ist das Blastem 12 Tage alt gewesen. Es sind die Gesamtblasteme verwandt worden. Spender und Wirt war wieder Salamandra maculosa. Bei Serie 3 ist ungefähr $3\frac{1}{2}$ cm langen Larven in $\frac{1}{2}$—1 cm Länge der Schwanz amputiert worden. Bei Serie 5 ist den Tieren ein reichlich 1 cm langes Schwanzstück abgesetzt worden. Ein Vergleichsblastem der Serie 5 (R 5) wird fixiert und zeigt einen Zellverband mit großen runden Zellkernen. Trennung von Epithel und Mesenchym nur andeutungsweise vorhanden. Nahe dem Stumpf ist in der Mitte des Regenerats eine konzentrische Anordnung der Zellen feststellbar.

Serie 3: Nach 32 Tagen Abtötung von 3 a:

Zyste aus mehrreihigem Epithel von Basalmembran umgeben. Im Innern Zelltrümmer. An einer Stelle ist die Zyste an die Wirtsepidermis angelehnt, an einer anderen mit dieser in einer homogenen Substanz, die kaum Zellgrenzen erkennen läßt, verschmolzen (Histolyse?). Neben der Zyste noch ein kleinerer Zellhaufen von epitheloidem Aussehen. Zellgrenzen und Kerne etwas verwachsen, von feinkörnigem Pigment durchsetzt.

Nach 39 Tagen Abtötung von 3 b und 3 c:

3 b: Mehrreihige Zyste, z. T. mit vakuoligen Zellen (weitere Differenzierung). Die Zyste ist mit einer Basalmembran umgeben und weist im Innern Zelltrümmer auf. Zystenwand und Epidermis an der Berührungsstelle verdünnt.

3 c: Mehrere Zellgruppen mit oval-schlitzförmigen Aussparungen, die z. T. mit Pigment und homogener Substanz ausgefüllt sind. Die Zellen sind histologisch nicht als Epithel ansprechbar. Leukozytenanhäufung. Das Bild widerspricht nicht den anderen Befunden, sondern zeigt nur eine nicht so weitgehende Differenzierung zum Epithel hin.

Nach 54 Tagen wird 3 d mit Pilzmantel tot aufgefunden. Vorheriger makroskopischer Befund: größere, pigmentierte Zellmasse, die die Cornea vorwölbt. Wegen dieses Befundes wird das tote Tier trotzdem fixiert. Das mazerierte Präparat läßt noch ohne weiteres eine ziemlich große Zyste und Leukozytenansammlung erkennen.

Serie 5: Nach 26 Tagen Abtötung von 5 a:

Gesundes, zystisches Gebilde, nach innen 2—3 reihig, von schwacher Basalmembran umgeben. Im Innern Pigment und Zelltrümmer.

Die Zellen sind sehr großkernig. Nicht als Epidermis differenziert. Mitosen im Schnitt.

Nach 29 Tagen Abtötung von 5 b. Das Tier ist seit 14 Tagen metamorphosiert und seit 12 Tagen an Land gesetzt. Der Interplantatsrest liegt in der Tiefe der Augenhöhle am Nervenplexus. Vielleicht erklärt sich aus der Lage in der Tiefe die schlechtere Wachstumstendenz. Das Interplantat besteht aus einer schalenförmig umeinandergelegten, kleinen, polymorphkernigen Zellgruppe. Leukozytenansammlung. Epidermis des Wirts drüsig gewuchert. Basalmembran gequollen.

Nach 33 Tagen Abtötung von 5 c:

Es bietet sich im wesentlichen dasselbe Bild wie bei 5 a. Die Zyste ist gekammert; an der der Epidermis zugewandten Seite ist die Zystenwand z. T. einreihig fein ausgezogen. Einzelne Zellen groß und klar mit mittelständigem Kern.

Nach 41 Tagen Abtötung von 5 d:

Zyste aus mehrreihigen, differenziertem Epithel. Vakuolige Zellen (Schleimzellen?). Die Zyste ist von Basalmembran und Pigment umgeben. Im Innern Zelltrümmer. An der Seite, die der Wirtsepidermis zuliegt, ist sie eingedrückt und verdünnt. Die Wirtsepidermis ist mit Schlingen angelehnt und verklebt, verdünnt und vorgeschoben. Zwischen beiden scheint ein flüssigkeitserfüllter Raum gewesen zu sein.

Nach 47 Tagen Abtötung von 5 e und 5 f:

5 e zeigt eine innerhalb der Epidermis liegende, von deren Basalmembran eingeschlossene, sehr kleine, dichte, histologisch unklare Zellgruppe. Es bleibt unbestimmt, ob diese vom Interplantat stammt.

5 f zeigt geballte Zellgruppen mit Hohlräumen. Die Zellgrenzen sind manchmal verwaschen. Von vielen Leukozyten und viel Pigment umgeben. Die Zellgruppen sind hier nicht ohne weiteres als Epithel ansprechbar. Die Wirtsepidermis ist eingezogen. Im Prinzip deckt sich der Befund mit den übrigen, nur liegt hier keine Zyste vor. Evtl. könnte hier noch die

Mesenchymvermehrung als vom Interplantat stammend bezeichnet werden.

Kontrollversuche.

Zur Kontrolle über die Veränderungen, die allein durch den operativen Eingriff hervorgerufen werden, wird 3 Salamandralarven ein Auge herausgenommen, ohne etwas zu interplantieren. Nach 23 Tagen wird das erste Tier (Ka) abgetötet. Es zeigt sich hier, daß die Basalmembran leicht aufgelockert ist und eingelagerte Zellen aufweist. Das nach 30 Tagen getötete Tier (Kb) zeigt Gefäßreichtum und Mesenchymvermehrung. Das nach 37 Tagen getötete Tier (Kc) zeigt eine schwach verdickte Basalmembran mit eingelagerten Zellen und Gefäßreichtum. Das Mesenchym ist in bescheidenen Grenzen vermehrt.

Zusammenfassung der Versuche.

Um ein klares Bild über die verschiedenen Versuchsserien geben zu können, fasse ich die einzelnen histologischen Befunde noch einmal zusammen. Bei der Verwendung der Extremitätenblasteme war ein einheitlicher Befund nicht zu erwarten, da die Versuchsbedingungen der Serien zu verschieden waren.

Bei der Serie 11, bei der heteroplastisch verfahren wurde, fällt die starke Veränderung der Basalmembran des Wirtes auf. Das Interplantat, das sich in 11 a und 11 b als histologisch undifferenziert am Leben erhält, scheint in 11 c der Nekrose zu verfallen. Die Abwehrreaktion des Wirtes ist naturgemäß stark.

Bei der Serie 10, bei welcher zwar homoplastisch verfahren wurde, jedoch nur das Mesenchym verwandt wurde, kommt es nur in einem Fall zu einer teilweisen histologischen Differenzierung (10 g), wobei jedoch eine morphologische auch andeutungsweise völlig ausbleibt. Im übrigen bleibt das Interplantat in histologisch unklaren Zellklumpen erhalten bezw. scheint in 10 e vermehrt und in das Wirtsgewebe eingedrungen zu sein.

Die Serie 1 zeigt uns das anfängliche Bild kurz nach der Interplantation. Hervorzuheben ist dabei, daß in diesem Stadium das Epithel noch erhalten ist.

Die Serie 6 zeigt sehr verschiedene Bilder. Man kann auch hier entsprechend dem heteroplastischen Verfahren eine starke Abwehrreaktion des Wirtes beobachten, die sich scheinbar

dort nicht so stark durchsetzt, wo wie bei 6 d und 6 b das Interplantat eine Differenzierung versucht.

Die Serie 2, bei der das Interplantat bereits 15 Tage alt ist, zeigt einerseits histologische und morphologische Differenzierungen, die aber beide gehemmt sind, andererseits noch histologisch unklare Zellreste. Bemerkenswert erscheint hier das Fehlen von Interplantatsepithel oder epitheloiden Zellen.

Auch die letzte Serie der Extremitätenblasteme, die Serie 4, bei der das Blastem bereits 17 Tage alt war, zeigt nur in 2 Objekten eine vollständige histologische Differenzierung. Die anderen Schnitte zeigen ein zwar gesundes und vermehrtes Interplantat, jedoch erreicht dieses höchstens Vorstufen einer histologischen Differenzierung. Wesentlich ist also hier die Feststellung eines weiteren Wachstums ohne histologische Ausdifferenzierung. Nun die Serien, bei denen Schwanzblasteme verwandt wurden. Da das Alter der Blasteme bei beiden Serien das gleiche ist, genügt für sie eine gemeinsame Zusammenfassung. Der Gesamtbefund ergibt hier ein einheitlicheres Bild. Fast alle Objekte zeigen ein gesundes Gewebe, das meistens zystische Gestalt angenommen hat und sich vermehrt hat. Die Histogenese tendiert zum Epithel hin, ist aber auch hier deutlich gehemmt. Die Abwehrreaktionen des Wirtes sind vorhanden, aber nicht so stark ausgeprägt, was wie schon bei Serie 6 betont, vielleicht damit zusammen hängt, daß die Zellen histologisch differenzierter sind. Die Veränderungen an der Basalmembran des Wirts sind nicht ausgesprochen. Das Mesenchym geht im Gegensatz zum Extremitätenblastem scheinbar zu Grunde und ist jedenfalls nicht mehr nachzuweisen. Im Vordergrund steht das Epithel, das von undifferenzierten bis zu differenzierten Zellverbänden variiert. Die Interplantate, sofern sie auch hier keine typischen Differenzierungen aufweisen, unterscheiden sich wieschon betont von den ebenfalls undifferenzierten bei den Extremitätenblastemen durch eine weit größere Gesundheit und Wachstumstendenz.

Besprechung der Ergebnisse.

Bevor ich abschließend die Ergebnisse der Versuche auswerte, möchte ich noch einmal die in der Einleitung bereits ausführlich dargelegten Versuchsziele streifen. Voraussetzung der weiteren Ziele war zuerst einmal, daß das Material undifferenziert und undeterminiert war. Nur unter diesen Voraussetzungen hatte die Fragestellung Sinn, was aus Zellverbänden wird, die der Regulation durch das Ganze, die normaler-

weise über den Herkunftsort erfolgt, entzogen sind. Differenzierte Zellen hätten höchstens zu Grunde gehen können, und auch den determinierten wäre ihr Schicksal im Sinne des weiteren Regenerationsgeschehens bereits aufgeprägt gewesen. Bei dem so ausgewählten Zellverband stand also wie schon gesagt die Frage offen, ob es zu Grunde geht, ob es reaktionslos und ohne seine Selbständigkeit zu wahren in das Wirtsgewebe übergeht oder ob es weiterwächst. In diesem Falle interessierte dann sein Verhalten zum Wirt und sein histologischer Aufbau.

Bis auf wenige Exemplare ist es gelungen, die Blasteme vor ihrer Determination abzutragen. Der Beweis einer Determination muß in einer versuchten Morphogenese gesehen werden. Die Determination scheint jedenfalls in einem fließenden Übergang zu erfolgen, da selbst 17 Tage alte Blasteme noch z. T. histologisch unklare Bilder ergeben. Wenn man dieses Ergebnis mit der bereits angeführten Arbeit M e t t e t a l s vergleicht, müßte man daran denken, daß andere Versuchbedingungen und vielleicht auch die niedrigere Temperatur von 18^0—20^0 die Determination hinausgezögert haben. Zu einer gleichzeitig vorhandenen normalen Morphogenese und Histogenese kommt es in keinem Fall.

Die Histogenese leidet erst in zweiter Linie Schaden; jedoch ist auch sie, wenn sie versucht wird, deutlich gehemmt, was aus den Befunden hervorgeht (Vorknorpel — Mesenchymschichtung). Dabei ist zu betonen, daß Vergleichsblasteme die am Herkunftsort verblieben, zu der gleichen Zeit bereits eine fast vollständige Ausbildung des Regenerats zeigten.

Ehe ich Einzelheiten berühre, die im Zusammenhang mit der angeführten Literatur noch interessieren, befasse ich mich erst einmal mit dem allgemeinen Ergebnis. Hier zeigte sich nun, daß bei der ziemlich langen Versuchszeit immer noch histologisch unklare Zellgruppen in Form von Knoten und verschieden großen Zysten zurückbleiben. Zum Teil haben diese epitheloides Aussehen oder differenzieren sich auch wie bei den Schwanzblastemen zum Epithel hin. Wichtig ist dabei, daß diese Zellverbände nur zum Teil der Nekrose verfallen und zum anderen Teil, wie besonders aber nicht ausschließlich bei den Schwanzblastemen, durchaus gesund und teilungsfähig erscheinen. Bezüglich der Nekrose, die zum Teil sicher auch auf die Abwehrreaktionen des Wirts zurückzuführen ist, finden wir natürlich besonders ausgesprochene Bilder bei dem heteroplastisch durchgeführten Serien. Diese Reaktionen des Wirts werden durch einen oft sehr starken Leukozytenwall und durch eine Durchdringung mit Leukozyten deutlich. Bei diesen, wie auch bei den homoplastischen erscheint jedoch die Abwehr des

Wirtes besonders stark bei noch undifferenzierten Zellen. Dies könnte darauf hinweisen, daß vornehmlich nicht die am Interplantatsort fremde Zelle, sondern die undifferenzierte, sich nicht einordnende Zelle die Abwehr hervorruft.

Die weiteren Reaktionen des Wirtes spielen sich an der Epidermis ab. Das Blastem scheint auf diese als Reiz zu wirken, der sie zur Wucherung veranlaßt. Der oftmals vorhandene Gefäßreichtum kann wohl ebenfalls als Reizreaktion, vielleicht entzündlicher Natur gewertet werden; er hat aber sicher keine besondere Bedeutung, da er sich auch in den Kontrollversuchen findet. Die Befunde an der Basalmembran sind zwar eigenartig, spielen aber sicher nur der Intensität nach eine Rolle, da sie ebenfalls, wenn auch schwächer in den Kontrollversuchen gefunden werden. Besonders ausgesprochen sind diese Veränderungen bei den Serien, bei denen nur Mesenchym verwandt wurde; im Zusammenhang damit, daß sie bei den zystisch-epithelialen Bildungen der Schwanzblasteme ebenfalls in geringerem Ausmaße auftreten, muß dem Mesenchym als solchem eine besondere Reizwirkung zugesprochen werden. Das Verhältnis von Epithel und Mesenchym in der Zusammensetzung des Interplantats ist ebenfalls erwähnenswert. Bei den Extremitätenblastemen scheint es zu Grunde zu gehen. Jedenfalls ist es neben der Wirtsepidermis nicht mehr nachweisbar, wenn man von epitheloiden Zellen absieht. Bei den ausdifferenzierten Interplantaten übernimmt die Wirtsepidermis auch für diese die Rolle des Epithels, worauf schon B a l i n s k i (1935) hinwies. Inwieweit das Epithel des Blastems als solches für die weitere Differenzierung wichtig ist, konnte nicht festgestellt werden, da ja bei den beiden Serien, bei denen nur Mesenchym verwandt wurde, mit Recht von der Voraussetzung ausgegangen wurde, daß das Blastem als Ganzes noch undeterminiert sei. Während so bei den Extremitätenblastemen das Epithel verloren geht, geht bei den Schwanzblastemen das Mesenchym zu Grunde. Die Ursache könnte darin zu suchen sein, daß das sich zystisch abschließende Epithel dem Mesenchym die Ernährung erschwert.

Was die Haupt-Fragestellung betrifft, so ist diese so zu beantworten, daß das Blastem sich im Kampf mit dem Wirt durchzusetzen versucht. Dabei variiert der Befund von Zellgruppen, die ohne Wachstum der Nekrose verfallen über sich vermehrende größere Gebilde zu solchen die sich zugleich mit einer teilweisen oder fast vollständigen Differenzierung dem Wirt gegenüber völlig durchsetzen. Die Abwehr des Wirtes tritt nur in Fall eins und zwei zutage. Meistens überwiegt sie gegenüber dem Interplantat und gibt dabei den Ausschlag. Je-

doch finden wir, wieder besonders bei den Schwanzblastemen, auch Fälle, wo das Interplantat sich eindeutig auch als histologisch nicht eindeutige Zellgruppe dem Wirt gegenüber durchsetzt und ihn sogar verdrängt. Diese letzteren Befunden muß man als ausschlaggebend und als positiv für unsere weiteren Betrachtungen werten.

So ergibt sich als wichtiges Ergebnis, daß die Arbeiten mit dem Regenerationsblastem, das sich undeterminiert an einem zur herkunfts- oder ortsgemäßen Regeneration unfähigen Bezirk entwickeln muß, tatsächlich Hinweise auf das Geschwulstproblem geben. Daß das Interplantat sich nicht differenzierte, beweist zuerst nur, daß es noch nicht determiniert war, daß es aber im freilich noch geringen Grade als histologisch unklares Gewebe weiter wächst, eröffnet eben doch neue Perspektiven. Das Ganze, das ja hier als gesunder Organismus vor uns steht, mußte natürlich gegen dieses Gewebe eine starke Abwehrreaktion entfalten. Aber die Tatsache, daß die undeterminierten Zellen sich nicht irgend einem Gewebe des Wirts anpassen, beispielsweise in dessen Bindegewebe übergehen, sondern sich histologisch unklar entwickeln und weiter wachsen, legt doch eine Beziehung zwischen Regeneration und Geschwulst sehr nahe. Man könnte so als Arbeitshypothese den Satz aufstellen, daß das Geschwulstwachstum eine irregeleitete Regeneration ist. Diese wird durch uns noch unbekannte Ursachen, die zur Aufhebung der Regulation und der das unbeschränkte Wachstum hemmenden Differenzierung führen, hervorgerufen. Dadurch wird die Frage wichtig, wodurch das Ganze regulierend am Zustandekommen der Regeneration beteiligt ist, bezw. welches Moment letzten Endes als fehlend die Verhinderung der Regeneration bei meinen Versuchen bewirkt hat. Durch die frühzeitige Abtrennung des Blastems ist es zwar augenscheinlich ausgeschaltet worden aber schließlich nicht festgestellt worden.

Nun noch zu einigen Einzelheiten meiner Versuche, die wie schon angedeutet im Zusammenhang mit der angebenen Literatur interessieren. Als erstes die Behauptung P o l e ž a j e w s (1934) daß das Blastem niemals „nullipotent" sei, womit er wohl ausdrücken wollte, daß es von Anfang an determiniert sei und folglich immer einen gewissen Potenzumfang besitze. Wäre dies der Fall, hätten die Blasteme meiner Versuchsserien sich samt und sonders differenzieren müssen oder wegen mangelnden Zellmaterials, diese Potenz zu verwirklichen, zu Grunde gehen müssen.

Wenn ich auch, wie von P o l e ž a j e w behauptet, ebenfalls die Bedeutung der Zellmenge nicht leugnen will, so haben doch

meine Versuche seine Ansicht nicht bestätigt. Die Resorption wurde, wenn sie überhaupt auftrat, zumindest sehr lange aufgehalten. In jenen Fällen aber, wo sie trotz histologisch unklaren Befundes sogar ausblieb, hätte man die Herkunft des Interplantats nicht mehr bestimmen können. Der Wert dieses Gegenbeweises liegt wie schon oft betont darin, daß wir also das Blastem als undeterminierte Ausgangszellgruppe für unsere Versuchsziele einsetzen konnten.

Die Zellmenge mag insofern von Bedeutung sein, als sie es dem Interplantat vielleicht eher ermöglicht, sich gegenüber der Abwehr des Wirts zu behaupten.

Die von Orechowitsch und Bromley (1934) beobachteten histolysierenden Eigenschaften des Regenerationsblastems konnte ich nicht bestätigen. Nun mag dies vielleicht daran liegen, daß die Wirtsepidermis zum Teil die Rolle des Epithels für das Interplantat mit übernommen hat. Aber auch die undifferenzierten Interplantate und die Schwanzblasteme zeigen nichts derartiges. Bei 3 a sehen wir zwar, daß an einer Stelle die Wirtsepidermis mit der Zyste in einer homogenen Substanz, die kaum Zellgrenzen erkennen läßt, verschmolzen ist. Jedoch darf dieses Bild nur mit Vorsicht als Histolyse gedeutet werden. Im übrigen scheint die Wirtsepidermis eher verstärkt zu werden, worauf ich schon an anderer Stelle hinwies.

Am Schluß möchte ich noch einige Hinweise geben, wie bei einer Fortführung der Versuche die Bedingungen abgeändert werden könnten. So wäre es z. B. angebracht, die Versuche autoplastisch durchzuführen und auch zwei bis drei Blasteme gleichzeitig zu interplantieren, um die Abwehr des Wirtes möglichst gering zu halten, und was die Zellzahl betrifft, dem Interplantat im Sinne der schon angeführten Versuche Poležajews von vornherein eine größere Chance zu bieten, sich durchzusetzen. Auch würde erstere Bedingung, was das Geschwulstproblem betrifft, zu noch besseren Vergleichen führen. Das Alter des Blastems könnte für Salamander weiterhin mit zehn Tagen festgesetzt werden. Zu den vorgesehenen Änderungen der Versuchsanordnung könnte auch noch eine vorsichtig vorgenommene Schädigung des Wirts treten; dies würde vielleicht ebenfalls ähnlich wie höheres Alter die Regenerationsfähigkeit im Sinne einer Differenzierungsleistung beeinflussen und der Tatsache entsprechen, daß eine allgemeine Resistenzverminderung mit erhöhter Krebsbereitschaft einher geht. Dies würde erneut die Bedeutung des Ganzen aufweisen und zur weiteren Klärung der Wirkungsweise des Ganzen führen.

In anderem Zusammenhang hat darauf Borssuk (1935) hingewiesen, der den Verlust der Regenerationsfähigkeit vom physiologischen Gesamtzustand abhängig gemacht wissen will.

So glaube ich, abschließend als Ergebnis der Arbeit feststellen zu können, daß die Versuche mit dem frühen Regenerationsblastem mit Interplantation desselben in die Augenhöhle Bedingungen darstellen, die zur Klärung des Geschwulstwachstums beitragen könnten.

Literatur.

Balinsky, B. I.: Selbstdifferenzierung des Extremitätenmesoderms im Interplantat. (Zool. Jb. Abt. allg. Zool. u. Physiol. 54, 327—348 (1935).

Borssuk, R. A.: Untersuchungen des Verlustes der Regenerationsfähigkeit der hinteren Extremität von Rana temporaria. (Roux' Archiv 133, 349—356 (1935)).

Brunst, V. V. u. E. A.: Chérémétieva: Über den Gebrauch der Röntgenstrahlen zum Studium der Regeneration bei den Amphibien. (Exper. Med. Nr. 7, 109—110 (1936)).

— Chérémétieva: Wirkt Röntgenbestrahlung eines Extremitätenteils auf die Regeneration eines anderen Teils derselben Extremität beim Triton? (Bull. Biol. et Méd. expér. URSS. 3, 242—244 (1937)).

Champy, Ch.: Gewebswachstum, Regeneration und Krebs. (Paris méd. 1935 I, 227—233).

Dürken, Bernh.: Lehrbuch der Experimental Zoologie, Berlin, Verlag Gebr. Bornträger, 1928.

— Das Verhalten embryonaler Zellen im Interplantat. Verhandl. d. Dtsch. zool. Ges. 1925.

— Das Verhalten embryonaler Zellen im Interplantat. Mit Berücksichtigung des Geschwulstproblem. (Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik. 107. Bd. 1926).

Korschelt, E.: Regeneration und Transplantation, Berlin, Verlag Gebr. Bornträger, 1927.

Liosner, L. D. u. M. A. Woronzowa: Regeneration des Organs mit transplantierten ortsfremden Muskeln. (Zool. Anz. 115, 55—58 (1936)).

Mettetal, G.: Frühe Determination der Regenerate beim Salamander. (C. R. Soc. Physique Genève 52, 268—269 (1935)).

Hidemiti, Oka: Die in der Wirtsbauchhöhle zur Entwicklung gelangten Extremitäten und ihre induktive Wirkung. (Zool. Anzeiger Bd. 110 (1935)).

Orechowitsch, W. N. u. N. W. Bromley: Die histolysierenden Eigenschaften des Regenerationsblastems. (Biol. Zbl. 54, 524—535 (1934)).

Poležajew, L.: Über die Determination des Regenerats (C. R. Acad. Sci. URSS. 4, 465—468 (1934)).
Poležajew, L. W. u. W. N. Faworina: Über die Rolle des Epithels in den anfänglichen Entwicklungsstadien einer Regenerationsanlage der Extremität beim Axolotl. (Roux' Archiv 133, 701—727 (1935)).
Poležajew, L. W.: Die Rolle des Epithels bei der Regeneration u. in der normalen Ontogenese der Extremitäten bei Amphibien. (Zool. Z. 15, 277—290 (1936)).
— Über Resorption und Proliferation sowie über die Verhältnisse der Gewebe zueinander bei Regeneration der Extremitäten des Axolotls. (Biol. Z. 2, 368—385 (1933)).
Rozas, A. I.: Die zytologischen Verhältnisse bei der Regeneration von Kaulquappenextremitäten. (Roux' Arch. 135, 552—608 (1936)).
Sawtschuk, M.: Über den Charakter der Zellen des Regenerationsblastems (Bull. Biol. et Méd. exper. URSS. 3, 622—624 (1937)).
Schaxel, J.: Zur Determination der Regeneration der Axolotlextremität II.
Woerdemann, M. W.: Potenzen von embryonalen Zellen und Regenerationsblastemen. (Nederl. Tijdschr. Geneesk 1935, 5057—5064).

Lebenslauf.

Am 13. 6. 1915 wurde ich in Posen als Sohn des Volksschullehrers Oswald Schubert und dessen Ehefrau Emma, geb. Klose, geboren. Ich besuchte 4 Jahre die Volksschule in Breslau und danach 9 Jahre das Realgymnasum am Zwinger in Breslau, wo ich im Februar 1934 mein Abitur bestand. Ich studierte anschließend an den Arbeitsdienst ausschließlich in Breslau, wo ich nach 5 Semestern das Physikum und nach 10 Semestern im Herbst 1939 das med. Staatsexamen mit gut bestand. Ich erhielt mit der bestandenen Prüfung meine Approbation als Arzt. Seit Beginn des Polenfeldzuges eingezogen leiste ich augenblicklich als Unterarzt Dienst im Heer.

Karl-Adolf Schubert.